

Rec'd PCT/PTO

25 APR 2003

*Handwritten signature*

10/532617

日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE

PCT/JP 03/13657

24.10.03

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日  
Date of Application: 2002年10月25日

出願番号  
Application Number: 特願2002-311840  
[ST. 10/C]: [JP 2002-311840]

RECEIVED
12 DEC 2003
WIPO

出願人  
Applicant(s): 呉羽化学工業株式会社

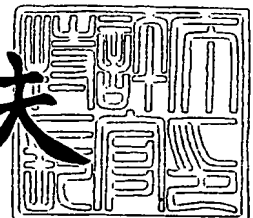
PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

CERTIFIED COPY OF  
PRIORITY DOCUMENT

2003年11月27日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今井康夫



BEST AVAILABLE COPY

【書類名】 特許願  
【整理番号】 KUP05953  
【あて先】 特許庁長官 太田 信一郎 殿  
【国際特許分類】 C12N 1/14

## 【発明者】

【住所又は居所】 福島県いわき市錦町堰下 5 5 - 1

【氏名】 北郷 宏幸

## 【発明者】

【住所又は居所】 福島県いわき市勿来町四沢作田 4 - 8 4

【氏名】 大友 信夫

## 【発明者】

【住所又は居所】 福島県いわき市錦町台 5 0

【氏名】 根本 康光

## 【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市花畑 3 - 9 - 1 5

【氏名】 高橋 栄作

## 【発明者】

【住所又は居所】 福島県いわき市東田町 1 - 2 0 - 1

【氏名】 日渡 淳二

## 【発明者】

【住所又は居所】 埼玉県所沢市大字上新井 9 8 9 - 1 7

【氏名】 松永 謙一

## 【特許出願人】

【識別番号】 000001100

【氏名又は名称】 呉羽化学工業株式会社

【代表者】 天野 宏

## 【手数料の表示】

【予納台帳番号】 013022

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 マツタケ菌糸体の製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 マツタケ菌糸体を、静置液体培養し、ついで、振盪培養することを特徴とするマツタケ菌糸体の製造方法。

【請求項2】 マツタケ菌糸体を、静置液体培養、ついで、振盪培養、さらに、100L未満の小型培養装置を用い、液体培地中に通気を行なわない攪拌培養を行なうことを特徴とする、マツタケ菌糸体の製造方法。

【請求項3】 マツタケ菌糸体を、静置液体培養、ついで、振盪培養、さらに、100L未満の小型培養装置を用い、液体培地中に通気を行なわない攪拌培養を行い製造したマツタケ菌糸体を製造用母菌に用いて、100L以上の中型・大型培養装置で、深部攪拌培養によりマツタケ菌糸体を製造する方法。

【請求項4】 静置液体培養の期間が、30～400日間である、請求項1～請求項3に記載のマツタケ菌糸体の製造方法。

【請求項5】 振盪培養の期間が5～50日間である、請求項1～請求項4に記載のマツタケ菌糸体の製造方法。

【請求項6】 接種時拡大倍率2～50倍の拡大培養である、請求項1～請求項5に記載のマツタケ菌糸体の製造方法。

【請求項7】 培養液単位体積あたりの攪拌所要動力が0.01～2kW/m<sup>3</sup>である、請求項1から請求項6に記載のマツタケ菌糸体の製造方法。

【請求項8】 培養液の浸透圧を0.01～0.8MPaに調製した培地を用いることを特徴とする請求項1～請求項7に記載のマツタケ菌糸体の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、マツタケ菌糸体の大量製造の母菌として利用可能なマツタケ菌糸体を製造し、これを利用して、マツタケ菌糸体を大量に製造する方法に関するものである。

## 【0002】

## 【従来の技術】

国際公開第2002-30440号公報の27ページには、マツタケ菌糸体の乾燥粉末をストレス負荷回復促進に利用する提案がなされている。

マツタケ菌糸体の製造方法に関して、特公昭第61-53032号公報の実施例1には、マツタケ菌の斜面寒天培養物を、デンプン類を含む液体培地中で、30日間振盪培養し、さらに、デンプン類を含む液体培地20Lに接種して、30日間通気攪拌培養して、マツタケ菌糸体を製造する方法が記載されている。

さらに、特開平第11-318433号公報の実施例1には、市販のマツタケ子実体から分離した菌糸体を4日間平板培養し、野菜抽出物を含有する液体培地で4日間馴化培養し、さらに、野菜抽出物を含有する液体培地2Lを加えた5Lの深層通気攪拌培養槽を用いて、6日間培養することにより、マツタケ菌糸体を製造できることが記載されている。

しかしながら、マツタケ菌糸体の大量製造に関して、生理活性を損なうことなく大量製造を可能にする新たな提案が待望されている。

【特許文献1】 国際公開第2002-30440号公報

【特許文献2】 特公昭第61-53032号公報

【特許文献3】 特開平第11-318433号公報

## 【0003】

## 【発明が解決しようとする課題】

本発明は、マツタケ菌糸体の大量製造の母菌として利用可能なマツタケ菌糸体を製造し、これを利用して、生理活性を損なうことなく、マツタケ菌糸体を大量に製造する方法を提供することを目的とするものである。

## 【0004】

## 【課題を解決するための手段】

本発明者らは、鋭意研究を行なった結果、固形培地または液体培地で、培養または保存したマツタケ菌を種株として、所定の期間、静置液体培養し、次いで振盪培養することにより、マツタケ菌糸体の量産に適したマツタケ菌の母菌が得られること、及び該母菌を攪拌培養することにより、効率的にマツタケ菌糸体を

量産できるという知見を得るに到った。

したがって、本発明は、固形培地または液体培地で、培養または保存したマツタケ菌を、静置液体培養し、ついで、振盪培養することを特徴とするマツタケ菌糸体の製造方法に関する。

さらに、本発明は、固形培地または液体培地で、培養または保存したマツタケ菌を、静置液体培養、ついで、振盪培養、さらに、100L未満の小型培養装置を用い、液体培地中に通気を行なわない攪拌培養を行なうことを特徴とする、マツタケ菌糸体の製造方法に関する。

さらに、本発明は、固形培地または液体培地で、培養または保存したマツタケ菌を、静置液体培養、ついで、振盪培養、さらに、100L未満の小型培養装置を用い、液体培地中に通気を行なわない攪拌培養を行い製造したマツタケ菌糸体を製造用母菌に用いて、100L以上の中型・大型培養装置で、深部攪拌培養によりマツタケ菌糸体を製造する方法に関する。

#### 【0005】

なお、本明細書中では、発明の理解を容易にするため、必要に応じて次のように記載する。

マツタケ菌の種株またはタツタケ菌の菌株をマツタケ菌Ⅰと記載する。

マツタケ菌Ⅰを固形培地または液体培地で、培養または保存したマツタケ菌を、マツタケ菌ⅠⅠと記載する。

マツタケ菌ⅠⅠを静置液体培養して得られるマツタケ菌を、マツタケ菌ⅠⅠⅠと記載する。

マツタケ菌ⅠⅠⅠを振盪培養して得られるマツタケ菌を、マツタケ菌ⅠⅠⅠⅠと記載する。

マツタケ菌ⅠⅠⅠⅠを100L未満の小型培養装置を用いて、培養液中に通気を行なわない攪拌培養を行い得られるマツタケ菌を、マツタケ菌ⅠⅠⅠⅠⅠと記載する。

マツタケ菌ⅠⅠⅠⅠⅠを100L以上の中型・大型培養装置を用いて、深部攪拌培養して得られるマツタケ菌を、マツタケ菌ⅠⅠⅠⅠⅠⅠと記載する。

マツタケ菌ⅠⅠⅠⅠⅠⅠを100L以上の中型・大型培養装置を用いて、深部攪拌培養して得られるマツタケ菌を、マツタケ菌ⅠⅠⅠⅠⅠⅠⅠと記載する。

さらに、マツタケ菌VIIを100L以上の中型・大型培養装置を用いて、深部攪拌培養して得られるマツタケ菌を、マツタケ菌VIIIと記載する。

#### 【0006】

##### 【発明実施の形態】

本発明で言うマツタケ菌とは、トリコローマ (*Tricholoma*) 属、及びその近縁種に属する種の菌類を言う。例を挙げると、トリコローマ属としては、マツタケ (*Tricholoma matsutake*) があり、その近縁種には、ニセマツタケ (*Tricholoma fulvocastaneum* Hongo sp. nov.)、バカマツタケ (*T. bakamatsutake* Hongo sp. nov.) や、マツタケモドキなどがある。

本発明の静置液体培養工程で使用する、マツタケ菌II (固形培地または液体培地で、培養または保存したマツタケ菌) の、マツタケ菌の種株またはタツタケ菌の菌株であるマツタケ菌Iは、天然、または市販のマツタケ子実体から純粋分離した菌糸体を用いることができる。

#### 【0007】

さらに、市販もしくは、独立行政法人産業技術総合研究所特許生物寄託センターなどに寄託されているマツタケ菌株も本発明において使用することができる。本発明で用いる菌株の例を挙げると、ATCC (American Type Culture Collection) のATCC34979、ATCC34981、及びATCC34988、発酵研IFO6915、IFO6925、IFO6930、IFO6935、IFO30604、IFO30605、IFO30606、農生資源研MAFF460038、独立行政法人産業技術総合研究所特許生物寄託センターに寄託されている*Tricholoma*属のFERMBP-7304などがある。

#### 【0008】

マツタケ菌IIの培養または保存に用いる培地は、一般的にマツタケ菌を培養する栄養源基質を有する培地であれば、特に制限無く使用することができる。例えば、太田培地 [Ohta, A (1990) *Trans. Mycol. Soc. Japan* 31:323-334]、MMN培地 [Marx, D. H. (1

969) *Phytopathology* 59:153-163]、浜田培地 [浜田 (1964) マツタケ、97-100]などを挙げることもできる。

固形培地用の固形化剤の例を挙げると、カラギーナン、マンナン、ペクチン、寒天、カードラン、デンプン、アルギン酸などがあり、これらのうち寒天が好ましい。

使用可能な培地の栄養源基質には、炭素源、窒素源、無機元素源などがある。

炭素源の例を挙げると、米デンプン、小麦粉デンプン、バレイショデンプン、サツマイモデンプンなどのデンプン類、デキストリン、アミロペクチンなどの多糖類、マルトース、シュクロースなどの少糖類、フラクトース、グルコースなどの単糖類がある。さらに、麦芽エキスを挙げることもできる。マツタケ菌の生長速度から、グルコースなどの単糖類が好ましい時期と、デンプン類の好ましい時期とがあるので、時期に応じた炭素源を選択し、必要に応じて組み合わせて使用する。

窒素源の例を挙げると、天然由来物質である酵母エキス、乾燥酵母、コーンステイーブリカー、大豆粉、大豆ペプトンなどがあり、窒素源としては、硝酸アンモニウム、硫酸アンモニウム、尿素などもある。これらを単独で、又は組み合わせて使用することができる。一般に、生長速度を考慮すると天然由来物質、特に酵母エキスが好ましい。

無機元素源は、リン酸および微量元素を供給するために使用する。例を挙げると、リン酸塩、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム、亜鉛、マンガン、銅、鉄等金属イオンの硫酸塩、塩酸塩、硝酸塩、リン酸塩などの無機塩があり、必要量を培地中に溶解する。

さらに、培地にビタミンB1などのビタミン類、アミノ酸類を添加することもできる。

#### 【0009】

さらに、使用するマツタケ菌の性質に応じて、植物抽出物、有機酸、核酸関連物質などを加えることができる。例を挙げると、果菜類、根菜類、葉菜類などの抽出物、クエン酸、酒石酸、リンゴ酸、フマル酸、乳酸などの有機酸、及び市



販の核酸、核酸抽出物、酵母、酵母エキスの核酸関連物質がある。

固体培地を調製する場合、炭素源の使用量は、 $10 \sim 100 \text{ g/L}$  (Lは、リットルを示す。以下同様)、好ましくは $10 \sim 50 \text{ g/L}$ 、特に好ましくは $20 \sim 30 \text{ g/L}$ である。

窒素源の使用量は、窒素元素相当量で、 $0.005 \sim 0.1 \text{ mol/L}$ 、好ましくは、 $0.007 \sim 0.07 \text{ mol/L}$ 、特に好ましくは、 $0.01 \sim 0.05 \text{ mol/L}$ である。

リン酸塩の使用量は、リン元素相当量で $0.001 \sim 0.05 \text{ mol/L}$ 、好ましくは、 $0.005 \sim 0.03 \text{ mol/L}$ 、特に好ましくは、 $0.01 \sim 0.02 \text{ mol/L}$ になるように使用する。さらに、他の無機塩、ビタミン類、植物抽出物、有機酸、核酸関連物質などマツタケ菌の性質に応じて適宜添加することができる。また、調製した栄養源基質溶液のpHを $4 \sim 7$ 、好ましくは $4.5 \sim 6.0$ 、特に好ましくは $5.0 \sim 5.5$ とする。

#### 【0010】

(静置液体培養)

次に、マツタケ菌II (固形培地または液体培地で、培養または保存したマツタケ菌) を静置液体培養してマツタケ菌IIIを製造する方法について記載する。

通常、 $100 \text{ mL} \sim 2 \text{ L}$ の三角フラスコを用いて行う。

この静置液体培養は、液体培地にマツタケ菌IIを接種することにより開始する。

接種したマツタケ菌IIを含有する培養液と液体培地とを合わせた混合物と、接種したマツタケ菌IIを含有する培養液との体積比 (以下において、「接種時液体培地比率」と記載) が $2 \sim 50$ 倍、好ましくは、 $3 \sim 30$ 倍となる量の液体培地を使用する。

接種したマツタケ菌IIを含有する培養液中のマツタケ菌IIの乾燥菌糸体重量と、接種したマツタケ菌IIを含有する培養液と液体培地とを合わせた混合物の体積の比 (以下において、「初発菌糸体濃度」と記載) を、好ましくは、 $0.05 \sim 3 \text{ g/L}$ 、より好ましくは、 $0.1 \sim 2 \text{ g/L}$ となるように、液体培地

にマツタケ菌 I I を含有する培養液を接種する。

本発明の静置液体培養では、培養温度を、15～30℃、好ましくは20～25℃とし、30～400日間、好ましくは120～240日間培養する。培養期間が、30日未満であっても、400日間より長期間であっても、大量培養に適した生育能を有するマツタケ菌 I I I を得ることが困難になる。

静置液体培養後の培養液中の乾燥菌糸体含有量（単位：g/L）と初発菌糸体濃度との比（以下において、「菌糸体増加倍率」と記載）が、2～25倍となるように培養することが、生育能の点で好ましい。

#### 【0011】

静置液体培養に使用する液体培地は、その浸透圧を0.01～0.8MPa、好ましくは0.02～0.7MPa、特に好ましくは0.03～0.5MPaとなるように、栄養源基質を使用する。

静置液体培養に用いる栄養源基質として、マツタケ菌 I を培養する固形培地と同じ炭素源、窒素源、無機元素源、ビタミンB1などのビタミン類、アミノ酸類を使用することができる。

炭素源の使用量は、10～100g/L、好ましくは20～60g/L、特に好ましくは25～45g/Lである。通常、グルコース等の単糖類を使用する。

窒素源の使用量は、窒素元素相当量で、0.005～0.1mol/L、好ましくは、0.007～0.07mol/L、特に好ましくは、0.01～0.05mol/Lである。

リン酸塩を使用量する場合は、リン元素相当量で0.001～0.05mol/L、好ましくは、0.005～0.03mol/L、特に好ましくは、0.01～0.02mol/Lになるようにする。

さらに、他の無機塩、ビタミン類、植物抽出物、有機酸、核酸関連物質などマツタケ菌の性質に応じて適宜添加することができる。

調製した栄養源基質溶液のpHを4～7、好ましくは4.5～6.5、特に好ましくは5.0～6.0とする。

マツタケ菌 I I I を含有している静置液体培養による培養液の一部もしくは

、全部を、マツタケ菌ⅠⅠを含有している培養液（もしくは、培養物）と同様に静置液体培養の接種源として、再度、静置液体培養工程で使用することもできる。

### 【0012】

#### （振盪培養）

次に、マツタケ菌ⅠⅠⅠを振盪培養して、マツタケ菌ⅠⅤを製造する方法について記載する。

通常、300 mL～5 Lの三角フラスコを用いて行う。

この振盪培養は、液体培地にマツタケ菌ⅠⅠⅠを接種することにより開始する。

接種したマツタケ菌ⅠⅠⅠを含有する培養液と液体培地とを合わせた混合物と、接種したマツタケ菌ⅠⅠⅠを含有する培養液との体積比（以下において、「接種時拡大倍率」と記載）が2～50倍、好ましくは、3～30倍、特に好ましくは5～10倍となる量の液体培地を使用する。

なお、接種時拡大倍率に見合う培養液の量を確保するために、静置液体培養を複数の培養装置を用いて製造することもできる。

接種したマツタケ菌ⅠⅠⅠを含有する培養液中のマツタケ菌ⅠⅠⅠの乾燥菌糸体重量と、接種したマツタケ菌ⅠⅠⅠを含有する培養液と液体培地とを合わせた混合物の体積の比（以下において、「初発菌糸体濃度」と記載）を、好ましくは、0.05～3 g/L、より好ましくは、0.1～2 g/Lとなるように、液体培地にマツタケ菌ⅠⅠⅠを含有する培養液を接種する。

振盪培養では、培養温度を、15～30℃、好ましくは20～25℃とし、7～50日間、好ましくは14～28日間実施し、攪拌培養に用いるマツタケ菌ⅠⅤを製造する。

振盪培養に要する動力として、通常、三角フラスコ内の培養液単位体積あたりの攪拌所要動力0.05～0.4 kW/m<sup>3</sup>を用いる。

静置液体培養後の培養液中の乾燥菌糸体含有量（単位：g/L）と初発菌糸体濃度との比（以下において、「菌糸体増加倍率」と記載）が、2～25倍となるように培養することが、生育能の点で好ましい。

## 【0013】

振盪培養に使用する液体培地は、その浸透圧を0.01~0.8MPa、好ましくは0.02~0.7MPa、特に好ましくは、0.03~0.5MPaとなるように、栄養源基質を使用する。

振盪培養に用いられる栄養源基質として、マツタケ菌ⅠⅠを培養する液体培地と同じ炭素源、窒素源、無機元素源、ビタミンB1などのビタミン類、アミノ酸類を使用することができる。

炭素源の使用量は、10~100g/L、好ましくは20~60g/L、特に好ましくは25~45g/Lである。通常、グルコース等の単糖類を使用する。

窒素源の使用量は、窒素元素相当量で、0.005~0.1mol/L、好ましくは、0.007~0.07mol/L、特に好ましくは、0.01~0.05mol/Lである。

リン酸塩の使用量は、リン元素相当量で0.001~0.05mol/L、好ましくは、0.005~0.03mol/L、特に好ましくは、0.01~0.02mol/Lになるようにする。

さらに、他の無機塩、ビタミン類、アミノ酸類、植物抽出物、有機酸、核酸関連物質などマツタケ菌の性質に応じて適宜添加することができる。

調製した栄養源基質溶液のpHを4~7、好ましくは4.5~6.5、特に好ましくは5.0~6.0とする。

## 【0014】

(攪拌培養)

次に、攪拌培養により、マツタケ菌Ⅴ、マツタケ菌ⅤⅠ、マツタケ菌ⅤⅠⅠ、マツタケ菌ⅤⅠⅠⅠを製造する方法について記載する。

この攪拌培養は、液体培地にマツタケ菌(ⅠⅤ~ⅤⅠⅠ)を接種することにより開始する。

攪拌培養で用いる液体培地は、次のようにして調製することができる。

栄養源基質は、振盪培養で使用する、炭素源、窒素源、無機元素源、ビタミンB1などのビタミン類、アミノ酸類と同じものを使用することができる。

炭素源の使用量は、 $10 \sim 100 \text{ g/L}$ 、好ましくは、 $20 \sim 60 \text{ g/L}$ であり、特に好ましくは、 $25 \sim 45 \text{ g/L}$ である。デンプン類を好ましく使用できる。

攪拌を行なう培養液中の浸透圧に影響するグルコースなどの単糖類を併用する場合、その使用量は、 $0.1 \sim 60 \text{ g/L}$ 、好ましくは、 $0.5 \sim 40 \text{ g/L}$ 、特に好ましくは、 $0.7 \sim 20 \text{ g/L}$ である。

窒素源の使用量は、窒素元素相当量で、 $0.005 \sim 0.1 \text{ mol/L}$ 、好ましくは、 $0.007 \sim 0.07 \text{ mol/L}$ 、特に好ましくは、 $0.01 \sim 0.05 \text{ mol/L}$ である。

リン酸塩の使用量は、リン元素相当量で  $0.001 \sim 0.05 \text{ mol/L}$ 、好ましくは、 $0.005 \sim 0.03 \text{ mol/L}$ 、特に好ましくは、 $0.01 \sim 0.02 \text{ mol/L}$  になるようにする。

さらに、他の無機塩、ビタミン類、アミノ酸類、植物抽出物、有機酸、核酸関連物質などマツタケ菌の性質に応じて、適宜、添加することができる。

調製した栄養源基質溶液の pH を  $4 \sim 7$ 、好ましくは  $4.5 \sim 6.5$ 、特に好ましくは  $5.0 \sim 6.0$  とする。

攪拌培養に使用する液体培地は、その浸透圧を  $0.01 \sim 0.8 \text{ MPa}$ 、好ましくは  $0.02 \sim 0.7 \text{ MPa}$ 、特に好ましくは  $0.03 \sim 0.5 \text{ MPa}$  となるように、栄養源基質を使用する。

攪拌培養の培養温度は、 $15 \sim 30^\circ\text{C}$ 、好ましくは  $20 \sim 25^\circ\text{C}$  を使用する。

#### 【0015】

接種したマツタケ菌 (IV~VII) を含有する培養液と液体培地とを合わせた混合物と、接種したマツタケ菌 (IV~VII) を含有する培養液との体積比 (以下において、「接種時拡大倍率」と記載) が  $2 \sim 50$  倍、好ましくは、 $3 \sim 30$  倍、特に好ましくは  $5 \sim 10$  倍となる量の液体培地を使用する。

接種したマツタケ菌 (IV~VII) を含有する培養液中のマツタケ菌 (IV~VII) の乾燥菌糸体重量と、接種したマツタケ菌 (IV~VII) を含有する培養液と液体培地とを合わせた混合物の体積の比 (以下において、「初発菌

糸体濃度」と記載)を、0.01~5 g/L、好ましくは、0.05~3 g/L、特に好ましくは、0.1~2 g/Lとなるように、液体培地にマツタケ菌 (I V~V I I) を含有する培養液を接種する。

攪拌培養で得られるマツタケ菌 (V~V I I) を、さらに、攪拌培養の母菌として用いる場合の培養日数は、3~20日間、好ましくは、5~14日間実施する。

これらの培養日数後に、マツタケ菌 (V~V I I) の乾燥菌糸体含有量が、0.5~10 g/L、好ましくは、1~8 g/L、特に好ましくは、1~6 g/Lになっている培養液は、攪拌培養に適した生育能を有するマツタケ菌 (V~V I I) を含有している。

静置液体培養後の培養液中の乾燥菌糸体含有量 (単位: g/L) と初発菌糸体濃度との比 (以下において、「菌糸体増加倍率」と記載) が、2~25倍となるように培養することが、生育能の点で好ましい。

他方、攪拌培養で得られるマツタケ菌 (V I ~V I I I) を、マツタケ菌糸体として分離する場合の培養日数は、5~30日間、好ましくは7~20日間、特に好ましくは、10~15日間実施する。

これらの培養日数から、炭素源の資化速度が著しく低下した時を培養終了とするのが好ましいが、適宜、製造サイクル、製造コスト等の製造形態に合わせて決定することができる。

静置液体培養後の培養液中の乾燥菌糸体含有量 (単位: g/L) と初発菌糸体濃度との比 (以下において、「菌糸体増加倍率」と記載) が、35~100倍となるように培養することが、工業的な生産性の点で好ましい。

マツタケ菌 I V を含有している振盪培養で製造した培養液を、100L以上の中型、及び大型培養槽などの培養装置による攪拌培養工程で使用することもできる。

#### 【0016】

攪拌培養に使用する培養装置は、通気攪拌ができ、無菌性が確保できれば特に制限無く使用することが可能で、必要に応じて通気することができ、又は、通気装置を装着できるものを使用する。したがって、通常の、小型、中型及び大型

の培養槽、又はジャーファーマンターを使用することができる。

100L未満のジャーファーマンターまたは小型培養槽を用いて、マツタケ菌 I V の培養を行いマツタケ菌 V を製造する場合、液体培地中に通気せずに、攪拌培養を行なうのが好ましい。100L未満のジャーファーマンターまたは小型培養槽で通気を行なって培養すると、菌糸が凝集し、成長点が欠失して母菌としての生育能が損なわれる場合があるからである。

また、100L以上の中型、及び大型培養槽などの培養装置により工業スケールで深部攪拌培養を行なう場合、必要に応じて通気を行なう。この場合の通気量は、 $0.05 \sim 1.0 \text{ vvm}$ 、特に、 $0.2 \sim 0.5 \text{ vvm}$ とするのが好ましい。

#### 【0017】

攪拌培養における攪拌は、培養初期では培養液単位体積あたりの所要攪拌動力で制御する。通常、 $0.01 \sim 2 \text{ kW/m}^3$ 、好ましくは  $0.05 \sim 1 \text{ kW/m}^3$  の範囲で攪拌を行なうことにより、マツタケ菌糸体が良好に生育する。培養初期を過ぎれば菌が生育をはじめ、酸素供給量が不足し、さらに、生育した菌糸体の分散が不十分になるので、適宜、攪拌の強度を大きくすることが必要になる。当該深部攪拌培養では、培養初期には低通気、低攪拌速度で培養し、培養後期には高通気、高攪拌速度で培養するのが好ましい。

深部攪拌培養から得られたマツタケ菌糸体の分離・回収は、常法によって行なうことができる。例えば、フィルタープレスなどによるろ過、遠心分離などである。得られたマツタケ菌糸体は、その使用目的に応じて、乾燥し、又は乾燥しないで、破碎、抽出又は成形して製品化する。

#### 【0018】

##### 【実施例】

以下に本発明に係わる、マツタケ菌糸体の大量製造の母菌として利用可能なマツタケ菌糸体を製造し、これを利用して、マツタケ菌糸体を大量に製造する方法を実施例で説明する。

実施例において、使用したマツタケ菌は、特許生物寄託センターに寄託されている、マツタケ FERM BP-7304 である。FERM BP-7304

の菌学的性質については、国際公開第2002-30440号公報に記載されている。例えば、10 mLのエビオス寒天斜面培地を入れた試験管中で維持されている。

段落0005に記載したマツタケ菌II～マツタケ菌VIIIIに対応する、マツタケFERM BP-7304を使用して得られたマツタケ菌を、マツタケ菌（II-1）～マツタケ菌（VIIII-1）と記載した。

#### 【0019】

攪拌培養に以下の装置を使用した。

実施例3、参考実施例3-2、5-1において、6枚ディスクタービン翼2段を備えた攪拌機と通気用スパージャーを装備した30 L容のジャーファーマンターから通気用スパージャーを取り外して使用した。実施例、参考実施例、各々において、30 L容ジャーファーマンターと記載した。

参考実施例5-2において、6枚ディスクタービン翼2段を備えた攪拌機と通気用スパージャーを装備した30 L容のジャーファーマンターを使用した。参考実施例5-2において、スパージャー装備30 L容ジャーファーマンターと記載した。

実施例4、参考実施例2-1～2-4、4-2、4-3、6-1～6-3、8-1において、4枚ディスクタービン翼2段を備えた攪拌機と通気用スパージャーを装備した200 L容培養槽を使用した。実施例、参考実施例、各々において、200 L容培養槽と記載した。

実施例5において、6枚ディスクタービン翼2段を備えた攪拌機と通気用スパージャーを装備した7 m<sup>3</sup>容培養槽を使用した。実施例5において、7 m<sup>3</sup>容培養槽と記載した。

実施例6において、6枚ディスクタービン翼3段を備えた攪拌機と通気用スパージャーを装備した65 m<sup>3</sup>容培養槽を使用した。実施例6において、65 m<sup>3</sup>容培養槽と記載した。

実施例2～6、参考実施例2-1、参考実施例6-1、参考実施例7-1～7-3、参考実施例8-1に「培養液単位体積当たりの攪拌所要動力」と記載されている中の培養液は、各々で使用されている、2 L容三角フラスコ、30 L容



ジャーファーマンター、スパージャー装備30L容ジャーファーマンター、200L容培養槽、7m3容培養槽、65m3容培養槽の中の全内容物を意味しており、接種した培養液のみを意味しているのではない。

#### 【0020】

栄養源基質として、実施例4、参考実施例2-1、参考実施例6-1、参考実施例8-1において、200L容培養槽を用いて、培地を調製する際に、次の3通りの組み合わせのいずれかを記載する必要がある場合には、A型基質、B型基質、C型基質と記載した。

A型基質：①バレイショデンプン4.9kg、②グルコース140g、③乾燥酵母エキス280g、④リン酸二水素カリウム280g、⑤硫酸マグネシウム・7水和物42g、⑥塩化カルシウム・2水和物0.84g、⑦硫酸亜鉛・7水和物0.56g、⑧塩化マンガン・4水和物0.70g、⑨硫酸銅・5水和物0.14g、(10)塩化鉄・6水和物1.12g、(11)チアミン塩酸塩0.14g。

B型基質：A型基質と、③乾燥酵母エキス320gのみ異なっている。他(①、②、④～(11))は内容、使用量ともにA型基質と同じ。

C型基質：A型基質及び、B型基質と、④～(11)の内容と使用量が同じで、乾燥酵母エキス640gと、バレイショデンプンとグルコースの使用量が異なっている。バレイショデンプンとグルコースの使用量は参考実施例8-1～8-3に記載の量を使用した。

#### 【0021】

以下の実施例1～実施例6で、500mL容三角フラスコから65m3容培養槽まで製造規模を拡大して行く過程を示した。

実施例1：500mL容三角フラスコを用いた、静置液体培養によるマツタケ菌(III-1)の製造方法

グルコース30g/L、乾燥酵母エキス3g/Lとなるように水道水に溶解し培地を調製した。培地の浸透圧は、0.4MPaであった。この培地を500mL容の三角フラスコに120mL分注、滅菌した。上記培地組成に静置液体培養で継代保存していたマツタケ菌(III-1)を含有する培養液10mLを接

種し、 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ の条件下で180日間静置液体培養し、マツタケ菌（III-1）乾燥菌糸体含有量  $5\text{ g/L}$  の培養液を製造した。

接種時拡大倍率13倍、初発菌糸体濃度  $0.38\text{ g/L}$ 、菌糸体増加倍率13倍。

#### 【0022】

実施例2：振盪培養によるマツタケ菌（IV-1）の製造方法

グルコース  $30\text{ g/L}$ 、乾燥酵母エキス  $1\text{ g/L}$ 、大豆ペプトン  $2\text{ g/L}$ 、麦芽エキス  $1\text{ g/L}$ 、リン酸二水素カリウム  $1\text{ g/L}$ 、リン酸水素二カリウム  $1\text{ g/L}$ 、硫酸マグネシウム・7水和物  $0.3\text{ g/L}$  となるように水道水に溶解し培地を調製した。この培地を2L容の三角フラスコに870mL分注、滅菌した。この870mLの培地に、実施例1のようにして製造した、マツタケ菌（III-1）乾燥菌糸体含有量  $5\text{ g/L}$  の培養液130mLを接種し、ロータリーシェイカーで培養液単位体積当たりの攪拌所要動力  $0.14\text{ kW/m}^3$ 、 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ の条件下で20日間振盪培養し、マツタケ菌（IV-1）乾燥菌糸体含有量  $5\text{ g/L}$  を含有する培養液を製造した。

接種時拡大倍率7.7倍、初発菌糸体濃度  $0.65\text{ g/L}$ 、菌糸体増加倍率7.7倍。

#### 【0023】

実施例3：30L容ジャーフェーマンターによるマツタケ菌（V-1）の製造方法

バレイショデンプン  $600\text{ g}$ 、グルコース  $60\text{ g}$ 、乾燥酵母エキス  $40\text{ g}$ 、リン酸二水素カリウム  $40\text{ g}$ 、硫酸マグネシウム・7水和物  $6\text{ g}$ 、塩化カルシウム・2水和物  $0.12\text{ g}$ 、硫酸亜鉛・7水和物  $0.08\text{ g}$ 、塩化マンガン・4水和物  $0.1\text{ g}$ 、硫酸銅・5水和物  $0.02\text{ g}$ 、塩化鉄・6水和物  $0.18\text{ g}$ 、チアミン塩酸塩  $0.02\text{ g}$  を30L容ジャーフェーマンター内で水道水に溶解、滅菌し18Lの培地を調製した。培地の浸透圧は、 $0.05\text{ MPa}$ であった。

この培地に、実施例2のようにして製造した、マツタケ菌（IV-1）乾燥菌糸体含有量  $5\text{ g/L}$  を含有する培養液2Lを接種し、培養液単位体積当たりの攪拌所要動力  $0.08\text{ kW/m}^3$ 、 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ の条件下で、培養液中に通気用スバ

ージャーから通気することなしに、7日間培養し、マツタケ菌（V-1）乾燥菌糸体含有量 1 g/L の培養液を製造した。

接種時拡大倍率 10 倍、初発菌糸体濃度 0.5 g/L、菌糸体増加倍率 2 倍。

#### 【0024】

実施例 4：200 L 容培養槽によるマツタケ菌（VI-1）の製造方法

A 型基質を 200 L 容培養槽内で水道水に溶解・滅菌して 120 L の培地を調製した。培地の浸透圧は、0.05 MPa であった。この培地に、実施例 3 のようにして製造した、マツタケ菌（V-1）乾燥菌糸体 1 g/L を含有する培養液 20 L を接種し、培養液単位体積当たりの攪拌所要動力 0.12 kW/m<sup>3</sup>、通気量 42 L/min、23 ± 2 °C の条件下で 7 日間深部攪拌培養し、マツタケ菌（VI-1）乾燥菌糸体含有量 3 g/L の培養液を製造した。

接種時拡大倍率 7 倍、初発菌糸体濃度 0.14 g/L、菌糸体増加倍率 21 倍。

#### 【0025】

実施例 5：7 m<sup>3</sup> 容培養槽によるマツタケ菌（VII-1）の製造方法

溶性デンプン 140 kg、グルコース 4 kg、乾燥酵母エキス 8 kg、リン酸二水素カリウム 8 kg、硫酸マグネシウム・7水和物 1.2 kg、塩化カルシウム・2水和物 24 g、硫酸亜鉛・7水和物 16 g、塩化マンガン・4水和物 20 g、硫酸銅・5水和物 4 g、塩化鉄・6水和物 32 g、チアミン塩酸塩 4 g を 7 m<sup>3</sup> 容培養槽内で水道水に溶解・滅菌し培地 3.72 m<sup>3</sup> を調製した。培地の浸透圧は、0.05 MPa であった。この培地に、実施例 4 のようにして製造した、マツタケ菌（VI-1）乾燥菌糸体含有量 3 g/L の培養液、2 槽相当分である 280 L を接種し、培養液単位体積当たりの攪拌所要動力 0.05 kW/m<sup>3</sup>、通気量 1.2 m<sup>3</sup>/min、温度 23 ± 2 °C で、7 日間深部攪拌培養し、マツタケ菌（VII-1）乾燥菌糸体含有量 3 g/L の培養液を製造した。

接種時拡大倍率 14.3 倍、初発菌糸体濃度 0.21 g/L、菌糸体増加倍率 14.3 倍。

#### 【0026】

実施例 6：65 m<sup>3</sup> 容培養槽によるマツタケ菌（VIII-1）の製造方法

溶性デンプン 1575 kg、グルコース 45 kg、乾燥酵母エキス 135 kg、リン酸二水素カリウム 90 kg、硫酸マグネシウム・7水和物 13.5 kg

、塩化カルシウム・2水和物 270 g、硫酸亜鉛・7水和物 180 g、塩化マンガニ・4水和物 225 g、硫酸銅・5水和物 45 g、塩化鉄・6水和物 360 g、チアミン塩酸塩 45 g を 65 m<sup>3</sup> 容培養槽内で水道水に溶解・滅菌し 36 m<sup>3</sup> の培地を調製した。

この培地に、実施例 5 のようにして製造した、マツタケ菌 (V I I - 1) 乾燥菌糸体含有量 3 g/L の培養液、1 槽相当分である 4 m<sup>3</sup> を接種し、通気量 12 m<sup>3</sup>/min、温度 23 ± 2℃ で、培養液単位体積当たりの攪拌所要動力 0.013 kw/m<sup>3</sup> で培養を開始し、その後、菌糸の伸張をみて、適宜、培養液単位体積当たりの攪拌所要動力を大きくしていき 12 日目に、0.12 kw/m<sup>3</sup> とし、13 日間深部攪拌培養して、マツタケ菌 (V I I I - 1) 乾燥菌糸体含有量 13.5 g/L の培養液を製造した。

接種時拡大倍率 10 倍、初発菌糸体濃度 0.3 g/L、菌糸体増加倍率 45 倍。

#### 【0027】

##### 参考実施例 1

静置液体培養によるマツタケ菌 (I I I - 1) を含有している培養液が振盪培養に及ぼした効果：静置液体培養の工程を経ない培養物と比較

マツタケ菌 (I I - 1) を含有しているエビオス寒天斜面培地培養物 10 mL を用いる他は、実施例 2 と同様に、20 日間振盪培養した。

20 日後の培養液から乾燥菌糸体含有量を求めることができなかった。

#### 【0028】

##### 参考実施例 2

静置液体培養によるマツタケ菌 (I I I - 1) を含有している培養液の製造期間が 200 L 容培養槽による深部攪拌培養に及ぼした効果：実施例 1 の 180 日間静置液体培養と、30 日間静置液体培養、50 日間静置液体培養及び、400 日間静置液体培養で製造した培養液を用いて比較。

##### 参考実施例 2-1：180 日間静置液体培養

実施例 1、実施例 2、ついで、実施例 3 と同様にして、マツタケ菌 (I V - 1) を含有している培養液を製造した。

他方、B 型基質を 200 L 容培養槽内で水道水に溶解・滅菌して 120 L の

培地を調製した。この培地に、マツタケ菌（IV-1）を含有している培養液 20 L を接種し、培養液単位体積当たりの攪拌所要動力 0.12 kW/m<sup>3</sup>、通気量 42 L/min、23 ± 2℃ の条件下で、12 日間深部攪拌培養した。

乾燥菌糸体含有量 12 g/L の培養液が得られた。

接種時拡大倍率 7 倍、初発菌糸体濃度 0.14 g/L、菌糸体増加倍率 84 倍。

#### 【0029】

##### 参考実施例 2-2：30 日間静置液体培養

静置液体培養の期間のみ 30 日間とする他は、実施例 1 と同様に培養した培養液を用いて、実施例 2、ついで、実施例 3 と同様の培養操作を行い、培養液を製造した。この培養液 20 L 用いる他は、200 L 容培養槽で参考実施例 2-1 に準じた培養操作を行った。

乾燥菌糸体含有量 2 g/L の培養液が得られた。

##### 参考実施例 2-3：50 日間静置液体培養

静置液体培養の期間のみ 50 日間とする他は、実施例 1 と同様に培養した培養液を用いて、実施例 2、ついで、実施例 3 と同様の培養操作を行い、培養液を製造した。この培養液を 20 L 用いる他は、200 L 容培養槽で参考実施例 2-1 に準じた培養操作を行った。

乾燥菌糸体含有量 8 g/L の培養液が得られた。

##### 参考実施例 2-4：400 日間静置液体培養

静置液体培養の期間のみ 400 日間とする他は、実施例 1 と同様に培養した培養液を用いて、実施例 2、ついで、実施例 3 と同様の培養操作を行い、培養液を製造した。この培養液 20 L を用いる他は、200 L 容培養槽で参考実施例 2-1 に準じた培養操作を行った。

乾燥菌糸体含有量 6 g/L の培養液が得られた。

#### 【0030】

##### 参考実施例 3

振盪培養によるマツタケ菌（IV-1）を含有している培養液が 200 L 容培養槽による深部攪拌培養に及ぼした効果：振盪培養の工程を経ない培養液と比較

## 参考実施例 3-1：20日間振盪培養

(参考製造例 2-1 に記載)

接種時及び、培養後のデータは次の通り。

乾燥菌糸体含有量 12 g/L の培養液が得られた。

接種時拡大倍率 7 倍、初発菌糸体濃度 0.14 g/L、菌糸体増加倍率 84 倍。

## 参考実施例 3-2：振盪培養抜き

実施例 1 で製造した、マツタケ菌 (III-1) 乾燥菌糸体含有量 5 g/L の培養液 2 L を用いて、実施例 3 と同様の培養操作で、30 L 容ジャーファーマンターで培養を行ったが、7 日間培養後の培養液から乾燥菌糸体含有量を求めることができなかった。

【0031】

## 参考実施例 4

振盪培養によるマツタケ菌 (IV-1) を含有している培養液が 200 L 容培養槽による深部攪拌培養に及ぼした効果：実施例 2 の 20 日間振盪培養と、5 日間振盪培養、3 日間振盪培養とで得られた培養液を用いて比較。

## 参考実施例 4-1：20日間振盪培養

(参考製造例 2-1 に記載)

接種時及び、培養後のデータは次の通り。

乾燥菌糸体含有量 12 g/L の培養液が得られた。

接種時拡大倍率 7 倍、初発菌糸体濃度 0.14 g/L、菌糸体増加倍率 84 倍。

## 参考実施例 4-2：5日間振盪培養

実施例 1 で製造した培養液を用いて、振盪培養期間を 5 日間とする他は、実施例 2 と同様にして培養液を製造し、ついで、実施例 3 と同様の培養操作を行い、培養液を製造した。この培養液を用いて、さらに、200 L 容培養槽で、参考実施例 2-1 に準じた培養操作を行った。乾燥菌糸体含有量 7 g/L の培養液が得られた。

## 参考実施例 4-3：3日間振盪培養

実施例 1 で製造した培養液を用いて、振盪培養期間を 3 日間とする他は、実施例 2 と同様にして培養液を製造し、ついで、実施例 3 と同様の培養操作を行い

、培養液を製造した。この培養液を用いて、さらに、200L容培養槽で、参考実施例2-1に準じた培養操作を行った。乾燥菌糸体含有量0.5g/Lの培養液が得られた。

### 【0032】

参考実施例5：30L容ジャーフェーマンターを用いた、通気しない攪拌培養によるマツタケ菌（V-1）を含有する培養液が200L容培養槽による深部攪拌培養に及ぼした効果：スパージャー装備30L容ジャーフェーマンターを用いて培養中に通気して得られた培養液との比較。

参考実施例5-1：マツタケ菌（IV-1）培養時に培養液に通気しない場合

（参考製造例2-1に記載）

次の様な観察結果が得られた。実施例3と同様に、30L容ジャーフェーマンターを用いて、培養液に通気しないで培養した培養液中の菌糸の多くはファイバー状であった。

接種時及び、培養後のデータは次の通り。

乾燥菌糸体含有量12g/Lの培養液が得られた。

接種時拡大倍率7倍、初発菌糸体濃度0.14g/L、菌糸体増加倍率84倍。

参考実施例5-2：マツタケ菌（IV-1）培養時に培養液に通気した場合  
実施例1、ついで、実施例2で製造した培養液を用いて、スパージャー装備30L容ジャーフェーマンターを使用して、2L/minの通気をする他は、実施例3と同様の操作を行い、培養液を製造した。この培養液中の菌糸は凝集していた。この培養液を用いて、さらに、200L容培養槽で、参考実施例2-1に準じた培養操作を行った。乾燥菌糸体含有量5g/Lの培養液が得られた。

### 【0033】

#### 参考実施例6

通気した深部攪拌培養によるマツタケ菌（VI-1）を含有している培養液の使用量が200L容培養槽による深部攪拌培養に及ぼした効果：実施例4で得られた培養液の使用量を変えて比較：

参考実施例6-1：マツタケ菌（VI-1）を含有している培養液を10L

## 接種

実施例 1、実施例 2、実施例 3、ついで、実施例 4 で、マツタケ菌 (V I - 1) を含有している培養液を製造した。

他方、B 型基質を 200 L 容培養槽内で水道水に溶解・滅菌して 130 L の培地を調製した。この 130 L の培地に、マツタケ菌 (V I - 1) を含有している培養液 10 L を接種し、培養液単位体積当たりの攪拌所要動力 0.12 kW/m<sup>3</sup>、通気量 42 L/min、23 ± 2℃ の条件下で、12 日間深部攪拌培養した。

乾燥菌糸体含有量 12 g/L の培養液が得られた。

接種時拡大倍率 14 倍、初発菌糸体濃度 0.21 g/L、菌糸体増加倍率 56 倍。

## 【0034】

参考実施例 6-2: マツタケ菌 (V I - 1) を含有している培養液を 5 L 接種

実施例 1、実施例 2、実施例 3、ついで、実施例 4 で製造した、マツタケ菌 (V I - 1) を含有している培養液を 5 L 使用し、さらに、無菌水を 5 L 使用する他は、200 L 容培養槽で参考実施例 6-1 に準じた培養操作を行った。乾燥菌糸体含有量 7 g/L の培養液が得られた。

接種時拡大倍率 28 倍、初発菌糸体濃度 0.107 g/L、菌糸体増加倍率 65 倍。

参考実施例 6-3: マツタケ菌 (V I - 1) を含有している培養液を 2 L 接種

実施例 1、実施例 2、実施例 3、ついで、実施例 4 で製造した、マツタケ菌 (V I - 1) を含有している培養液を 2 L 使用し、さらに、無菌水を 8 L 使用する他は、200 L 容培養槽で、参考実施例 6-1 に準じた培養操作を行った。乾燥菌糸体含有量 2 g/L の培養液が得られた。

接種時拡大倍率 70 倍、初発菌糸体濃度 0.043 g/L、菌糸体増加倍率 46.7 倍。

## 【0035】



## 参考実施例 7

通気した深部攪拌培養によるマツタケ菌 (V I - 1) を含有している培養液を母菌に使用して 200 L 容培養槽による深部攪拌培養する際の攪拌条件が菌糸体生成に及ぼした効果:

参考実施例 7-1: 培養液単位体積当たりの攪拌所要動力  $0.12 \text{ kW/m}^3$

(参考製造例 6-1 に記載)

接種時及び、培養後のデータは次の通り。

乾燥菌糸体含有量  $12 \text{ g/L}$  の培養液が得られた。

接種時拡大倍率 1.4 倍、初発菌糸体濃度  $0.21 \text{ g/L}$ 、菌糸体増加倍率 5.6 倍。

参考実施例 7-2: 培養液単位体積当たりの攪拌所要動力  $1.09 \text{ kW/m}^3$

培養液単位体積当たりの攪拌所要動力を  $1.09 \text{ kW/m}^3$  にする他は、参考実施例 7-1 と同様に、12 日間深部攪拌培養した。

乾燥菌糸体含有量  $7 \text{ g/L}$  の培養液が得られた。

接種時拡大倍率 1.4 倍、初発菌糸体濃度  $0.21 \text{ g/L}$ 、菌糸体増加倍率 3.3 倍。

参考実施例 7-3: 培養液単位体積当たりの攪拌所要動力  $2.63 \text{ kW/m}^3$

培養液単位体積当たりの攪拌所要動力を  $2.63 \text{ kW/m}^3$  にする他は、参考実施例 7-1 と同様に、12 日間深部攪拌培養したが、12 日後の培養液から乾燥菌糸体含有量を求めることができなかった。

【0036】

## 参考実施例 8

通気した深部攪拌培養によるマツタケ菌 (V I - 1) を含有している培地を母菌に使用して 200 L 容培養槽による深部攪拌培養する際の炭素源の違いが菌糸体生成に及ぼした効果: バレイショデンプンとグルコースとの使用量 (指標としての浸透圧) による比較。

参考実施例 8-1: 浸透圧 0.05 MPa

実施例 1、実施例 2、実施例 3、ついで、実施例 4 で、マツタケ菌 (V I-1) を含有している培養液を製造した。

他方、C 型基質、バレイショデンプン 9.8 kg 及び、グルコース 140 g を 200 L 容培養槽内で水道水に溶解・滅菌して、浸透圧 0.05 MPa の培地 130 L を調製した。この 130 L の培地に、マツタケ菌 (V I-1) を含有している培養液 10 L を接種し、培養液単位体積当たりの攪拌所要動力 0.12 kW/m<sup>3</sup>、通気量 42 L/min、23±2℃ の条件下で本培養として 12 日間深部攪拌培養した。

乾燥菌糸体含有量 14 g/L の培養液が得られた。

接種時拡大倍率 14 倍、初発菌糸体濃度 0.21 g/L、菌糸体増加倍率 65 倍。

#### 【0037】

参考実施例 8-2: 浸透圧 0.50 MPa

バレイショデンプン 4.97 kg、グルコース 4.97 kg を使用して、浸透圧 0.50 MPa の培地 130 L を作製する他は、参考製造例 8-1 と同様に操作し、12 日間深部攪拌培養した。

乾燥菌糸体含有量 9.5 g/L の培養液が得られた。

接種時拡大倍率 14 倍、初発菌糸体濃度 0.21 g/L、菌糸体増加倍率 44.3 倍。

参考実施例 8-3: 浸透圧 0.98 MPa

バレイショデンプン 140 g、グルコース 9.8 kg を使用して、浸透圧 0.98 MPa の培地 130 L を作製する他は、参考製造例 8-1 と同様に操作し、12 日間深部攪拌培養した。

乾燥菌糸体含有量 2 g/L の培養液が得られた。

接種時拡大倍率 14 倍、初発菌糸体濃度 0.21 g/L、菌糸体増加倍率 9.3 倍。

#### 【0038】

【発明の効果】

本発明により、固形培地または液体培地で、培養または保存したマツタケ菌を、静置液体培養し、ついで、振盪培養、さらに、100L未満の小型培養装置を用い、液体培地中に通気を行なわない攪拌培養を行い製造したマツタケ菌糸体を製造用母菌に用いて、100L以上の中型・大型培養装置で、深部攪拌培養によりマツタケ菌糸体を製造することが可能になった。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 マツタケ菌糸体を大量に製造する方法を提供する。

【解決手段】 マツタケ菌糸体を静置液体培養、振盪培養、さらに、攪拌培養することにより、大量に製造することを可能にした。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2002-311840
受付番号	50201615093
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0094
作成日	平成14年10月28日

<認定情報・付加情報>

【提出日】	平成14年10月25日
-------	-------------

次頁無

特願 2002-311840

出願人履歴情報

識別番号

[000001100]

1. 変更年月日

1990年 8月28日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都中央区日本橋堀留町1丁目9番11号

氏 名

呉羽化学工業株式会社

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☒ BLACK BORDERS

☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES

☒ FADED TEXT OR DRAWING

☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING

☐ SKEWED/SLANTED IMAGES

☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS

☐ GRAY SCALE DOCUMENTS

☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**